

## РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ СВЯЗЫВАНИЯ АНТИТЕЛ С ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМИ МАРКЕРАМИ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МУЛЬТИПЛЕКСНОМ АНАЛИЗЕ

Д.В. КОБЗЕВ<sup>1\*</sup>, А.Л. ТАТАРЕЦ<sup>2</sup>, А.Н. ОГУРЦОВ<sup>3</sup>

<sup>1</sup> магистрант кафедры биотехнологии, биофизики и аналитической химии, НТУ "ХПИ", Харьков, УКРАИНА

<sup>2</sup> заведующий отделом органических люминофоров и красителей, канд. хим. наук, ГНУ "НТК "Институт монокристаллов" НАН Украины", Харьков, УКРАИНА

<sup>3</sup> профессор кафедры биотехнологии, биофизики и аналитической химии, докт. физ.-мат. наук, НТУ "ХПИ", Харьков, УКРАИНА

\*email: kobzevua@yahoo.com

Кровь человека содержит сотни различных молекул, которые важны для распознавания инфекций, связывания с рецепторами клеточной поверхности и катализа ферментативных процессов. Такое биоразнообразие молекул наиболее эффективно анализируется с помощью мультиплексных технологий с использованием иммунологических методов, использующих конъюгаты антител с различными маркерами, что позволяет адресно распознавать отдельные молекулы.

Благодаря своим спектральным свойствам (узкой полосе флуоресценции, высокой яркости, значительному коэффициенту экстинкции ( $1.96 \times 10^6 \text{ л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$ ) и квантовому выходу ( $\sim 90\%$ )), пигмент красных водорослей, R-фикоэритрин (R-PE), остается одним из наиболее распространенных высокомолекулярных флуоресцентных маркеров в медико-биологических исследованиях.

С целью определения оптимальных условий связывания маркера с антителами нами были выбраны модельный объект – иммуноглобулин G (IgG). В качестве кросс-линкеров были использованы 2-иминотиолан (2IT) и сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)-циклогексан-1-карбоксилат (SMCC). Варьировались концентрации белков и кросс-линкеров, их молярные соотношения, и время протекания соответствующих реакций.

Результаты модельных экспериментов были использованы для получения конъюгата *anti-CD4-R-PE*. Проверка активности, специфичности и яркости конъюгата *anti-CD4-R-PE* по сравнению со стандартным коммерческим образцом, проведенная методами флуоресцентной микроскопии и проточной цитофлуориметрии, показала, что полученный конъюгат не уступает по специфичности и сопоставим по яркости со стандартным коммерческим образцом.

Таким образом, полученный конъюгат *anti-CD4-R-PE* может быть использован в мультипараметрическом анализе биообъектов, а разработанная методика может быть использована для мечения моноклональных антител.